

ENZYM-HISTOCHEMISCHE
VERÄNDERUNGEN IN
DER RATTENMILZ NACH
HYPERBARER OXYGENATION

Hans Jakob Rothschenk

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554427_0038

Fachbereichsdekan:	Professor Dr.med. U.Wollert
Referent:	Professor Dr.med. H.Leithoff
Korreferent:	Professor Dr.med. G.Walther
Tag der mündlichen Prüfung:	27.6.1973

Gesamtherstellung:



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN · AM KAPELLECHEN 1
TELEFON 0 61 32 / 57 11



G L I E D E R U N G

A.	E I N L E I T U N G	1
B.	L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T	2
	I. Kurzer geschichtlicher Rückblick	2
	II. Physiologie des Sauerstoffs	3
	a) Verhalten des Sauerstoffs im Blut unter atmosphärischen Bedingungen	3
	b) Physiologische Wirkung reiner Sauerstoffatmung unter normo- und hyperbaren Bedingungen	4
	III. Sauerstofftoxizität	5
	a) Voraussetzungen für die toxische Wirkung	5
	b) Pathologische Organveränderungen	6
	c) Pathogenese der Sauerstoffvergiftung	7
C.	M A T E R I A L u n d M E T H O D E	8
	I. Versuchstiere	8
	II. Technische Anordnung und Durchführung der Versuche	8
	a) Beschreibung der Druckkammer	8
	b) Behandlung der Tiere	8
	III. Behandlung der Milz	10
	a) Histologische Färbung	10
	b) Histochemie	10
	1. Darstellung der Cytochromoxidase	10
	2. Darstellung der Dehydrogenasen	11
	c) Methode der Auswertung histo- chemischer Enzymreaktionen	12
D.	E I G E N E B E F U N D E	14
	I. Verhalten der Tiere während des Versuchs	14
	II. Sektionsbefunde	14
	III. Histologische Befunde	15
	IV. Histochemische Befunde	15
	a) Cytochromoxidase	15
	b) Dehydrogenasen	16

V.	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse	20
	a) Cytochromoxidase	20
	b) Dehydrogenasen	20
E.	D I S K U S S I O N	27
	I. Funktion der Milz	27
	II. Histologische Veränderungen in der Milz nach hyperbarer Oxygenation	27
	III. Enzymveränderungen der Presslufttiere	28
	IV. Enzymveränderungen der mit Sauerstoff-überdruck beatmeten Tiere	28
	a) Cytochromoxidase und Succinat-dehydrogenase	28
	b) Übrige Dehydrogenasen	30
	V. Folgen der Enzymschäden in der Milz	34
F.	Z U S A M M E N F A S S U N G	35
G.	L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	37

A. EINLEITUNG

In den letzten Jahrzehnten gewinnt die Sauerstoffbeatmung - z. T. auch unter hyperbaren Bedingungen - in der Luftfahrtmedizin, in der Tiefseeforschung und in der Weltraumfahrt immer mehr an Bedeutung. Mit dem häufigen Gebrauch von Sauerstoff wurde man auch mit seiner Toxizität konfrontiert, die mit zunehmendem Sauerstoffpartialdruck und Atmungsdauer ansteigt (51, 67, 71).

In den vergangen 20 Jahren wurde Sauerstoff auch zunehmend in der klinischen Medizin benutzt, so u. a. bei der Behandlung von Herz- und Respirationskrankheiten (61, 67, 71), bei der Bekämpfung von Anaerobierinfektionen (1, 12, 16, 17, 30, 47), als zusätzliche Therapie bei der Tumorbestrahlung (31, 34) und bei der Aufzucht von Frühgeborenen (51, 67, 71, 76).

Im Rahmen einer größeren Arbeit über die toxische Wirkung hyperbaren Sauerstoffs hatte ich die pathologischen Enzymveränderungen an Rattenmilzen zu untersuchen.

B. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

I. Kurzer geschichtlicher Rückblick

Priestley, der Entdecker des Sauerstoffs, formulierte 1775 die Hypothese, daß die tierischen Stoffwechselprozesse in einer Sauerstoffatmosphäre in gleicher Weise beeinflußt werden wie eine brennende Kerze unter denselben Bedingungen (68). Lavoisier und Seguin (75) beschrieben 1793 in ihrer Arbeit "Sur la respiration des animaux" die Bedeutung des Sauerstoffs bei der Atmung. Sie nannten den Sauerstoff "l'air vital". Im Verlauf der Untersuchungen stellten sie fest, daß reiner Sauerstoff bei normalem Druck den Stoffwechsel nicht beeinflußt.

1849 fanden Reignault und Reiset, daß der Sauerstoffgehalt der Luft ohne Schaden für Tiere um das zwei- bis dreifache erhöht werden kann (19). Den Begriff "Sauerstoffvergiftung" prägte als erster Paul Bert in seinem Buch "La pression barométrique". Er faßte seine Erkenntnisse wie folgt zusammen: "L'oxygène se comporte comme un poison rapidement mortel. L'empoisonnement est caractérisé par des convulsions" (10; S. 801). Nach seiner Meinung wirkt sich die Toxizität in erster Linie auf das zentralnervöse System (ZNS) aus.

1899 erkannte Smith (79), daß ein Sauerstoffanteil von 40 % in der Atemluft bei gewöhnlichem Druck auf Mäuse keinen Einfluß hat. 70 % Sauerstoffanteil führen in einigen Tagen zum Tod. Sauerstoffüberdruckbeatmung tötet Mäuse innerhalb von Stunden. Bei der Sektion fand er Hyperämie und entzündliche Veränderungen der Lunge. In der folgenden Zeit bis etwa zum zweiten Weltkrieg befaßte man sich vornehmlich mit den Veränderungen an der Lunge nach Sauerstoffbeatmung (2, 7, 19, 22, 46,

65, 66, 75, 79). Erst 1937 weist Pflesser (65) in seinen Versuchen nach, daß der Sauerstoff selbst und nicht Verunreinigungen des Preßsauerstoffs die Ursache der Toxizität ist. Nach dem zweiten Weltkrieg gilt das Hauptaugenmerk der Untersuchungen den metabolischen und strukturellen Veränderungen nach Sauerstoffapplikation (9, 21, 29, 33, 38, 67, 71, 76, 89).

II. Physiologie des Sauerstoffs

Verhalten des Sauerstoffs im Blut unter atmosphärischen Bedingungen.

In unserer Atemluft sind neben Stickstoff, Edelgasen und Kohlendioxid etwa 21 % Sauerstoff enthalten. In den Lungenalveolen liegt der Sauerstoffanteil etwa bei 15 %. Das entspricht einem Sauerstoffpartialdruck von ungefähr 100 mmHg. Dieser Wert ist entscheidend für den Gasaustausch in den Alveolen.

Der Sauerstoffaustausch von den Alveolen zum Blut ist ein mit einer chemischen Reaktion verbundener Diffusionsprozess (85). Der Diffusionsweg beträgt etwa 0,5 - 1 μ .

Der Sauerstofftransport im Blut erfolgt auf zwei Wegen:

1. physikalisch gelöst: Nach dem Henry-Daltonschen Gesetz

$$C = pO_2 \cdot \frac{\alpha}{760}$$

sind in 1 ml Blut 0,003 ml Sauerstoff gelöst vorhanden, das entspricht 0,3 Vol%.

*

α = Bunsenscher Löslichkeitskoeffizient
 α_{O_2} = 0,024 ml O_2 /ml $\cdot$ ata
 p_{O_2} = Sauerstoffpartialdruck

2. chemisch gebunden: Nach der Hüfnerschen Zahl können von 1 g Hämoglobin (Hb) maximal 1,34 ml Sauerstoff (O_2) gebunden werden. Das bedeutet, daß in 100 ml Blut bei einem Hb-Gehalt von 16 g% maximal 21,44 ml Sauerstoff chemisch gebunden vorliegen können. Der Anteil des chemisch gebundenen Sauerstoffs ist also rund siebzigmal größer als die physikalisch gelöste Menge. Unter normobaren Bedingungen ist bei gesunden Menschen das Hb zu 97 % mit Sauerstoff gesättigt. Der arterielle Sauerstoffpartialdruck beträgt etwa 95 mmHg, der venöse 40 mmHg.

Entsprechend dem Druckgefälle diffundiert Sauerstoff in der Peripherie vom Plasma in das Gewebe, wobei der physikalisch gelöste Sauerstoff laufend von chemisch gebundenem ergänzt wird. Kohlendioxid (CO_2) diffundiert währenddessen entgegengesetzt. Bei diesem Vorgang wird Oxyhämoglobin (HbO_2) zu Hb desoxygeniert. Das anfallende Kohlendioxid wird auf drei Wegen zur Lunge abtransportiert:

1. physikalisch gelöst (10 %)
2. chemisch gebunden als Bicarbonat im Erythrocyten (25 %) und im Plasma (45 %)
3. als Carbaminverbindung an Hb angelagert (20 %)

Die durch das anfallende Kohlendioxid zwangsläufig zunehmende Säuerung des Blutes wird durch die Puffereigenschaften des Blutes verhindert. Dabei hat das Hb einen Hauptanteil. Die bei der Bindung von Bicarbonat anfallenden H^+ -Ionen werden zum großen Teil vom Hb abgefangen, da bei der Desoxygenierung von HbO_2 gleichzeitig die Azidität des Hb geringer wird (84).

Physiologische Wirkung reiner Sauerstoffatmung unter normobaren und hyperbaren Bedingungen.

Atmung von reinem Sauerstoff unter normalem Druck steigert vornehmlich den physikalisch gelösten Sauerstoffanteil im Plasma. Zusätzlich kommt es zu einer 100%-igen Sättigung

des Hämoglobins mit Sauerstoff. Nach dem Henry-Dalton'schen Gesetz beträgt der physikalisch gelöste Sauerstoff bei normalem Druck etwa 2 Vol%. Bei hyperbarer Oxygenation steigt dieser Wert proportional dem Druck. So beträgt der physikalisch gelöste Sauerstoff bei einem O_2 -Partialdruck von 2 ata etwa 4 Vol%, bei einem O_2 -Partialdruck von 3 ata etwa 6 Vol%.

Normalerweise rechnet man mit einem Sauerstoffverbrauch durch die Zellen von etwa 6 ml O_2 pro 100 ml arterielles Blut. Das bedeutet, daß bei einem Sauerstoffdruck von 3 ata und mehr kein Oxyhämoglobin desoxygeniert wird. Daraus folgt eine Beeinträchtigung des CO_2 -Abtransportes aus dem Gewebe, da kein Carbaminohämoglobin mehr gebildet werden kann. Zusätzlich ist eine Azidose zu erwarten, da die Pufferkapazität des Blutes durch das Fehlen von desoxygeniertem Hämoglobin beeinträchtigt ist.

III. Sauerstofftoxizität

Voraussetzungen für die toxische Wirkung.

Bei einem Sauerstoffpartialdruck unter 455 mmHg sind keine toxischen Symptome zu erwarten. Bei mehr als 455 mmHg sind die Symptome abhängig vom Sauerstoffpartialdruck und der Dauer der Sauerstoffexposition. Solange der Sauerstoffpartialdruck unter 2 ata liegt, zeigen sich etwa nach 5 Tagen Exposition vornehmlich Symptome von Seiten des Respirationstraktes. Diese Erscheinung wird als "Lorrain Smith-Effekt" bezeichnet. Höherer Druck führt zusätzlich zu einer akuten Beeinträchtigung des ZNS, es ist der sogenannte "Paul Bert-Effekt" (59, 67, 71).

Weibel (88) dagegen hat festgestellt, daß während Langzeitbeatmung die Lungenschadensgrenze bei etwa dem doppelten Wert des normalen Sauerstoffpartialdruckes erreicht ist. Das sind etwa 300 mmHg. Rueckert und Müller (72) stellten sogar schon bei einem Sauerstoffpartialdruck von 228 mmHg Wachstumsstörungen an Zellkulturen fest.

Pathologische Organveränderungen.

Ausführliche Untersuchungen liegen über den Respirations-trakt und das ZNS vor. In der Lunge werden unter anderem Hyperämie, interstitielles und alveolares Ödem, alveolare Blutungen, Verdickungen der Alveolarsepten und entzündliche Reaktionen beschrieben (2, 7, 19, 22, 30, 44, 46, 47, 51, 58, 65, 66, 67, 69, 71, 75, 79, 89). Klinisch fallen Dyspnoe und verringerte Vitalkapazität auf (7, 11, 14, 47).

Untersuchungen am ZNS zeigen histologisch Nekrosen von Ganglienzellen, klinisch sah man Konvulsionen und Lähmungen (2, 5, 7, 10, 13, 19, 30, 39, 43, 47, 51, 52, 67, 71, 76, 89, 90).

Am Auge fallen bei hyperbarem Sauerstoff ausgesetzten Erwachsenen Gesichtsfeldeinschränkungen auf (71, 76, 88). Bei im Inkubator aufgezogenen Frühgeborenen (O_2 -Konzentration 60 %) wurde das Krankheitsbild der retrolentalen Fibroplasie beschrieben (4, 36, 71, 76, 89).

Vonseiten des Herz-Kreislauf-Systems werden Bradykardie (2, 19, 81, 89), Blutdrucksteigerung (81), Cyanose (11) und Kapillarparalyse (61) beschrieben.

Als Auswirkungen auf das Blut sind Abnahme des Hb-Gehaltes und der Erythrozytenzahl bekannt (2, 81). Mengel (53) und Roth (71) wiesen Hämolyse nach. Bradley (15) dagegen stellte im Blut keine wesentlichen Veränderungen fest.

Über andere Organe liegen nur wenige Berichte vor. Es wird über Gelenk- und Muskelschmerzen berichtet (67). Erhöhte Aktivität von Hypophyse und Nebennierenrinde treten auf (6, 60). Abnahme von Milz- und Thymusgewicht wird beschrieben (20, 78).

Pathogenese der Sauerstoffvergiftung.

Permeabilitätsstörungen an der Zellmembran (9, 38) und Veränderungen an Mitochondrien (29, 42, 58, 70, 71, 74, 89) werden als direkte Giftwirkung des Sauerstoffs beschrieben. Andere Autoren beschreiben eine signifikante Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels (26, 49). Nach längerer O_2 -Exposition steigen Glukose-, Pyruvat- und Laktatblutspiegel an. Die Oxidation von Sulfhydrylgruppen enthaltenden Enzymen (Abb. 5, S. 33) wird von vielen Autoren für die Hauptursache der schädigenden Wirkung des Sauerstoffs gehalten (21, 24, 36, 38, 45, 60, 67, 71, 82, 89). Nur wenige Autoren halten diesen Mechanismus für unbedeutend (50, 83). Als weiterer Angriffspunkt wird eine Beeinflussung der Atmungskette angenommen (23, 24, 37, 71). Lipidperoxidation wird für Mitochondrien- und Permeabilitätsstörungen verantwortlich gemacht (41, 53, 71). Andere Autoren sehen Parallelen zwischen der Sauerstoffvergiftung und Röntgenstrahlenschädigung. Sie nennen als gemeinsamen biologischen Mechanismus die Entstehung freier Radikale (31, 32, 34, 36, 71). Für das Auftreten dieser Störungen ist eine direkte Wirkung des Sauerstoffs anzunehmen.

Daneben wird besonders für die Enzymstörungen zusätzlich ein indirekter Schädigungsmechanismus angenommen. Die Doppelaufgabe des Hb im O_2 - und CO_2 -Transport bedingt bei hyperbarer Oxygenation eine Kumulation von CO_2 in den Geweben und im Blut. Folge davon ist eine Azidose, die hemmend auf die Stoffwechselvorgänge wirkt (6, 8, 10, 18, 33, 35, 39, 44, 48, 76).

C. MATERIAL und METHODE

I. Versuchstiere

Es wurden 30 männliche Ratten vom Stamm Sprague Drawly verwendet. Ihr Gewicht lag zwischen 180 und 200 g. Sie erhielten Standardfutter der Intermast GmbH und Wasser ad libitum. Es wurden insgesamt drei Tiergruppen gebildet, die folgendermaßen behandelt wurden:

Gruppe I : 10 Normaltiere (760 mmHg Luft)

Gruppe II : 10 mit Pressluft beatmete Tiere (3,8 ata)

Gruppe III: 10 mit hyperbarem Sauerstoff beatmete
Tiere (3,8 ata; OHP-Tiere)

II. Technische Anordnung und Durchführung der Versuche

Für die Untersuchungen wurde eine Überdruckkammer der Firma Dräger benutzt (Typ: PD-1058-1). Es handelt sich um eine 2 - 3 Mann-Druckkammer mit Vorkammer und Medikamentenschleuse.

Die Tiere der Gruppe II wurden für 4 Stunden einer Pressluftatmosphäre von 3,8 ata Druck ausgesetzt. Die Druckanstiegszeit betrug 10 Minuten. Die Temperatur, die beim Einschleusen auf 27°C anstieg, pendelte sich während des Versuches auf 23 - 25°C ein. Der Sauerstoffgehalt betrug 21 Vol%, der CO₂-Gehalt schwankte zwischen 0,04 und 0,3 Vol%. Die Tiere wurden nach den für Menschen gültigen Austauschtabellen ausgeschleust (27).

Die Tiere der Gruppe III saßen unter einer Glasglocke in der Druckkammer, die nach unten durch einen Rost abgeschlossen war (Abb. 1). In das Glasgefäß wurde von unten her kontinuierlich Sauerstoff eingelassen, so daß die Sauerstoffkonzentration, die fortlaufend gemessen wurde, auf 98 - 99 Vol% gehalten werden konnte. Der CO₂-Gehalt schwankte zwischen 0,05 und 0,24 Vol%. Innerhalb von 10 Minuten wurde von 1 ata auf 3,8 ata komprimiert. Nach 4 Stunden wurde mit der Dekompression begonnen. Der Austauschvorgang dauerte 10 Minuten. Diese kurze Zeit ist

möglich, da bei reiner Sauerstoffatmung mit Symptomen der Caisson-Erkrankung nicht zu rechnen ist*. Die Kammer-temperatur wurde während der gesamten Zeit auf $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ konstant gehalten.

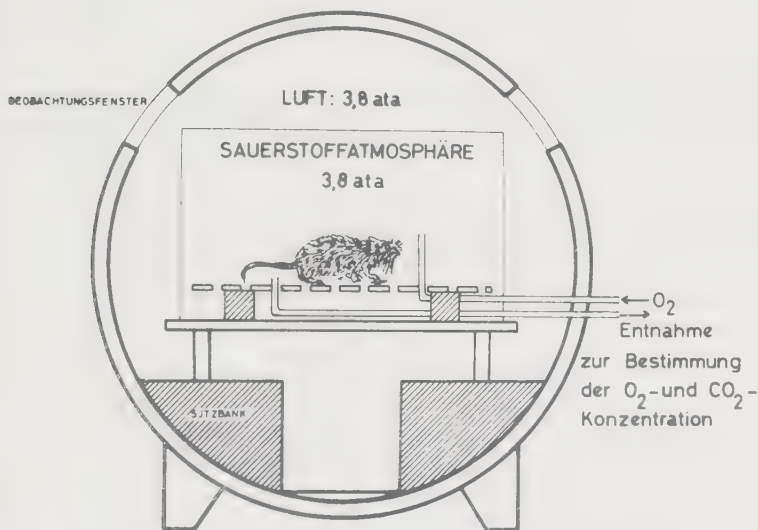


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung während der hyperbaren Oxygenation.

Die Normaltiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten wie die Pressluft- und Sauerstofftiere. Alle Tiere wurden unmittelbar nach der Druckbehandlung durch Dekapitation getötet.

Die unbehandelten Tiere wurden zur gleichen Zeit auf die gleiche Weise getötet. Nach der Tötung wurden die Tiere sofort sezziert.

Die eine Hälfte der Milz wurde in flüssigem Stickstoff, die andere Hälfte in Formalin asserviert.

* Haberer, K.: Dissertation an der medizinischen Fakultät in Mainz in Ausarbeitung

III. Behandlung der Milz

Histologie

Für die histologische Begutachtung wurde eine HE- und eine Goldner-Färbung angefertigt. Es wurde nach den üblichen Methoden verfahren.

Histochemie

Die histochemischen Schnitte wurden mit einem Pearse-Cryostat der Firma SLEE angefertigt. Die Schnittdicke betrug 8 μ .

Folgende Enzyme wurden dargestellt:

1. Cytochromoxidase (CO)
2. Laktatdehydrogenase (LDH)
3. Malatdehydrogenase (MDH)
4. Isocitratdehydrogenase (IDH)
5. Succinatdehydrogenase (SDH)
6. NAD-Diaphorase (DD)
7. NADP-Diaphorase (TD)

Darstellung der Cytochromoxidase:

Der histochemischen Darstellung der CO wurde die Original-Nadi-Reaktion nach Moog (54) unter Verwendung des von Nachlas (56) angegebenen Substrates zu Grunde gelegt.

Die 8 μ dicken Schnitte werden auf Objektträger aufgenommen und 30 Minuten in der wie folgt zusammengesetzten Lösung inkubiert.

α -Naphthol (1mg/ml)	16,5 ml
Phosphatpuffer pH 7,4 (0,1 m)	30,5 ml
Katalase (30 μ g/ml)	6,0 ml
Dimethyl-p-phenylendiamin (0,217g/100ml)	26,0 ml

Nach der Inkubation werden die Schnitte mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und in 4%-igem Formalin fixiert. Nach nochmaligem Abspülen mit Lei-

tungswasser werden die Schnitte mit Glyceringelatine eingedeckt. Außerdem wird ein Leerwert mitgeführt, in welchem dem Inkubationsmedium 1 ml $7 \cdot 10^{-2}$ m Kaliumcyanid-lösung zugesetzt wird.

Darstellung der Dehydrogenasen:

Zur Darstellung der Hydrogenasen, der NAD- und der NADP-Diaphorase wurde ein einheitliches Inkubationsmedium angewandt, das sich nur in der Art der Substrate und Coenzyme unterscheidet (55, 57, 62, 73).

Die Inkubationslösung besteht aus einer jeweils 0,1 m Substratlösung und einer Stammlösung, die das Tetrazoliumsalz, das Kobaltchlorid zur Chelation und einen Puffer enthält.

Die Stammlösung hat folgende Zusammensetzung:

Tris-Puffer (0,2 m Tris; 0,1 m HCl) pH 7,4	25,0 ml
Kobaltchlorid 0,5 m	5,0 ml
3-(4,5-dimethyl-thiazolyl-2)-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromid (MTT) 1 mg/ml	25,0 ml

Die Zusammensetzung der Inkubationslösung ist aus Tab. 1 ersichtlich.

Nach Zusammenfügen aller Substanzen wird die Wasserstoffionenkonzentration überprüft und mit 0,2 m Tris oder 0,1 m HCl auf pH 7,0 - 7,1 eingestellt. Zur Kontrolle der Enzymfärbung werden Leerwerte angefertigt. Für die Enzyme LDH, MDH, IDH und SDH reicht ein gemeinsamer Leerwert, der die entsprechenden Substrate nicht enthält. Für die Enzyme DD und TD wird ebenfalls ein Leerwert hergestellt, der die reduzierten Pyridinnukleotide nicht enthält. Anstelle der Substrate wird in allen Leerwerten die entsprechende Menge Aqua bidest hinzugefügt.

ENZYM	SUBSTRAT	SUBSTRAT-MENGE	STAMML.	NAD 20mg/ml	NADH ₂	NADPH ₂	H ₂ O
LDH	Na-Laktat	0,5ml	4,5ml	0,5ml			
MDH	Na-Malat	0,5ml	4,5ml	0,5ml			
JDH	DL-Isocitronensäure Na ₃ -Salz	0,5ml	4,5ml	0,5ml			
SDH	Na-Succinat	0,5ml	4,5ml				0,5ml
DD			4,5ml		10mg		1,0ml
TD			4,5ml			10mg	1,0ml

Tab 1: Zusammensetzung der Inkubationslösung

Die Cryostatschnitte werden in die Inkubationslösung eingestellt und 60 Minuten bei +37°C inkubiert. Danach wird mit Leitungswasser abgespült und in 4%-igem Formalin fixiert. Anschließend wird nach nochmaligem Abspülen mit Leitungswasser in Glyceringelatine eingedeckt.

Methoden der Auswertung histochemischer Enzymreaktionen

Da Enzyme in biologischen Strukturen nur in geringen Mengen vorhanden sind, ist ihr Nachweis mit Hilfe normaler histologischer Färbungen nicht differenziert möglich. Die Enzymdarstellung gelingt über die spezifische Wirkung der Spaltung eines Substrates und anschließender Visualisierung der Spaltprodukte. H⁺-Ionen-, Aktivatoren- sowie Koenzymkonzentration eingehalten werden. Voraussetzungen für die Begutachtung des histochemischen Schnittes sind Funktionserhaltung des Fermentes während der histochemischen Reaktion, Unlöslichkeit des bei der enzymatischen Reaktion anfallenden Produktes, Sichtbarkeit des Produktes und Erhaltung der histologischen

Struktur des Organs während der Inkubation. Die unlöslichen Reaktionsprodukte liegen am Ort der Fermentwirkung. Die Intensität der Reaktionsendprodukte läßt bis zu einem gewissen Grad auf die Aktivität des Enzyms schließen.

Der in der Histochemie verwendete Begriff Enzymaktivität ist nicht im Sinne biochemisch quantitativ gemessener Einheiten definiert. Er beschreibt vielmehr die Intensität der Ferment-Substrat-Reaktion. Im allgemeinen ist aber bei intensiver Anfärbung mit höherer biochemischer Spaltungsrate zu rechnen.

Zur Quantifizierung der histochemischen Reaktion wurden folgende Begriffe und Zeichen gewählt:

Keine Darstellung:	Ø
sehr schwache Darstellung	+
schwache Darstellung:	++
mäßig starke Darstellung:	+++
starke Darstellung:	++++
extrem starke Darstellung:	+++++

D. E I G E N E B E F U N D E

I. Verhalten der Tiere während des Versuches

Normal beatmete Tiere

Sie verhielten sich während des gesamten Versuches unauffällig.

Mit Pressluft beatmete Tiere

Während der Kompressionsphase zeigten alle Tiere eine leichte Unruhe, die sich in intensivem Putzen äußerte. Ansonsten verhielten die Tiere sich normal. Während des gesamten Versuches lag die Atemfrequenz bei 68 - 72 Atemzüge in der Minute.

Mit Sauerstoff beatmete Tiere

Während des Einschleusens waren die Tiere unruhig, was durch intensives Putzen auffiel. In den folgenden 127 Minuten befanden sich alle Tiere im Ruhezustand und schliefen. Danach begannen alle Tiere unruhig zu werden und umherzulaufen. Im weiteren Verlauf steigerte sich die Unruhe. Nach 162 Minuten fielen bei einem Tier Krämpfe und schwere tiefe Atemzüge auf. 5 Minuten später begannen zwei weitere Tiere zu krampfen. Kurz danach trat bei diesen Schnappatmung ein. In den folgenden 25 Minuten setzten bei sechs Tieren generalisierte Krampfanfälle ein, sie begannen zusätzlich zu springen und entwickelten ebenfalls eine Schnappatmung. Drei Tiere krampften nicht und hatten auch eine normale Atemfrequenz. Allerdings erschienen sie motorisch sehr unruhig. Nach dem Ausschleusen waren noch alle Tiere am Leben.

II. Sektionsbefunde

Die normal beatmeten Tiere waren bei der Sektion unauffällig. Die Presslufttiere zeigten lediglich eine

Blähung des Magen-Darm-Traktes. Bei den mit hyperbarem Sauerstoff beatmeten Tiere fielen an der Lunge Ödem, Hyperämie und Atelektasen auf. Leber und Milz waren hyperämisch.

III. Histologische Befunde

Die Normal- und Presslufttiere zeigten keine Veränderungen. In den Milzen der Sauerstofftiere waren die Kapillaren weitgestellt und es fiel eine Hyperämie auf.

IV. Histochemische Befunde

Die Cytochromoxidase (CO) sowie die Dehydrogenasen mit Ausnahme der Succinatdehydrogenase (SDH) zeigten in allen Präparaten einen positiven Ausfall von Enzymreaktionsprodukten.

Cytochromoxidase

Gruppe I:

In der Milzkapsel, den Trabekeln und den Trabekelgefäßen ist keine Reaktion festzustellen. Subkapsulär liegen stark gefärbte punktförmige, grobe Granulanhäufchen vom Durchmesser einer Pinselarterie, die untereinander durch sehr schwache Granulastreifen verbunden sind. Die interfollikulären Anteile der roten Pulpa sind mäßig stark gefärbt. Hier zeigen sich herdförmige Granulaansammlungen, die schwach von den umliegenden Granulastrukturen abgesetzt sind. Der perifollikuläre Ring (Weidenreichsche Knötchenrandzone) ist etwas stärker als die rote Pulpa dargestellt. Einzelne Granula sind dort vorhanden. Die Randgebiete der Milzsinus unterscheiden sich kaum von der angrenzenden roten Pulpa. Die weiße Pulpa und die Zentralarterien zeigen keine Granulierung.

Im Zentrum der herdförmigen Granulaansammlungen liegen wahrscheinlich Retikulozyten. (Abb. 2 a)

Ein Präparat dieser Reihe unterscheidet sich auffallend von diesem Befund. Es ist fast vollkommen ungefärbt, nur subkapsulär liegen einzelne allerdings sehr stark angefärbte, dichtstehende Granula, die aber untereinander keine Verbindung haben.

Gruppe II:

Im Gegensatz zur vorhergehenden Gruppe ist der subkapsuläre Anteil der roten Pulpa etwas stärker angefärbt. Die Granulierung der rundlichen Herde ist etwas gröber.

Gruppe III:

Der Farbstoff ist auf einige Herde konzentriert, die pinsel- bis kleintrabekelarteriengroß und in den subkapsulären und perifollikulären Anteilen des roten Markes angeordnet sind. In ihrem Zwischenraum befinden sich keine Granula. Nur an wenigen Stellen sind die angefärbten Granulahaufen miteinander durch wenig dicht stehende Granula verbunden. Weiterhin finden sich solche Granulakonglomerate um einen Teil der Milzsinus, hier sind sie aber durch enge Granulastraßen miteinander verbunden. In der Trabekelumgebung scheint eine partielle Granulavermehrung vorzuliegen. (Abb. 2 b)

In zwei Präparaten sind die Granulastreifen zwischen den Konglomeraten stärker ausgeprägt. Die Reaktion um die Milzsinus ist in diesen beiden Präparaten etwas stärker.

Dehydrogenase

1. Laktatdehydrogenase:

Gruppe I:

Die rote Pulpa ist sehr schwach granuliert. Im Randgebiet der Milzsinus nimmt die Granulierung gering-

fällig zu. Ein perifollikulärer Ring mit punktförmigen Granulaanhäufungen ist schwach angefärbt vorhanden. Die Zentral- und Pinselarterien sind mittelstark bis stark granuliert. Im Zentrum der Milzfollikel liegen einige Granula. Die Trabekel und Trabekelgefäße sind negativ (Abb. 3 a)

Zwei Präparate weisen eine etwas geringere Enzymaktivität auf.

Gruppe II:

In der roten Pulpa ist nur an vereinzelten Stellen eine schwache Reaktion zu erkennen, die meist im Randgebiet der Milzsinus lokalisiert ist. Das Parenchym in nächster Umgebung der Zentralarterien ist mittelstark angefärbt, hier verlaufen die Granula entlang den retikulären Fasern, was den Malpighischen Körperchen in diesem Bereich eine wabige, netzartige Struktur verleiht. Ansonsten entsprechen die Präparate denen der vorhergehenden Gruppe.

Gruppe III:

Verteilung und Intensität der Formazangranula in diesen Präparaten zeigen keinen Unterschied gegenüber Gruppe II. Nur die Zentralarterienwände sind noch etwas stärker angefärbt. In den Milzfollikeln sind keine Granula zu finden. (Abb. 3 b)

2. Malatdehydrogenase:

Gruppe I:

Die Zentralarterien sind mittelstark granuliert. Die Milzknötchen sind negativ. Ein perifollikulärer Ring ist nicht zu sehen. Trabekel und Trabekelgefäße enthalten keine Granula. In einem Präparat dieser Reihe sind die Reaktionsprodukte noch schwächer dargestellt.

Gruppe II:

In den Milzknötchen sind vereinzelte Granula anzutreffen, die an den retikulären Fasern hängen. Das Endothel der Trabekelvenen ist mittelstark gefärbt. In einem Präparat ist ein sehr schwach angedeuteter perifollikulärer Ring zu erkennen.

Gruppe III:

Die Verteilung der Granula entspricht der der Gruppe II. Ihre Intensität ist insgesamt aber etwas stärker.

3. Isocitratdehydrogenase:

Gruppe I:

In der gesamten roten Pulpa, den perifollikulären Ringen und den Milzfollikeln finden sich regelmäßig verteilte schwach angefärbte Granula. Nur die Zentralarterienwände sind etwas deutlicher dargestellt. Man kann insgesamt von einer schwachen Reaktion sprechen. Trabekel und Trabekelgefäße sind negativ.

Gruppe II:

Die Verteilung der Granula entspricht Gruppe I. Ihre Intensität ist deutlich schwächer.

Gruppe III:

Nur in zwei Präparaten ist eine schwache Reaktion der Zentralarterienwände und der Weidenreichschen Randzone angedeutet. Die übrigen Schnitte sind negativ.

4. Succinatdehydrogenase:

In der Gruppe I und II sind sämtliche Präparate negativ. In der Gruppe III sind in drei Präparaten schwach angefärbte Zentralarterienwände und wenige, sehr schwach angefärbte perifollikulären Ringe zu erkennen.

5. NAD-Diaphorase:

Gruppe I:

Alle Präparate zeigen eine starke Reaktion. Die rote Pulpa ist homogen granuliert. In den Randgebieten der Milzsinus nimmt die Granulierung etwas zu, so daß man hier von einer mäßig starken Reaktion sprechen kann. Der perifollikuläre Saum ist mittelstark granuliert. Im Zentrum der Malpighischen Körperchen ist die Reaktion sehr schwach. Nur wenige Follikel sind mit einem angedeuteten intrafollikulären Ring versehen. Die Zentral- und Pinselarterien sind stark dargestellt. In den Trabekeln befinden sich einige sehr starke, spindelförmige, verdichtete Granula, die wahrscheinlich topographisch den glatten Muskelzellen zugehören. Die Trabekelgefäße sind negativ. (Abb. 4 a)

Gruppe II:

Die Enzymverteilung unterscheidet sich nicht von der vorhergehenden Gruppe, allerdings ist die Enzymaktivität schwächer.

Gruppe III:

Sämtliche Präparate sind bis auf einzelne Granula in den Zentralarterienwänden und im Parenchym der roten und weißen Pulpa negativ. (Abb. 4 b)

6. NADP-Diaphorase:

Gruppe I:

In der roten Pulpa sind die Granula gleichmäßig verteilt. Ein schwach positiver perifollikulärer Ring ist vorhanden. Die Zentral- und Pinselarterien sind mäßig stark gefärbt. In den Milzfollikeln liegen nur vereinzelt Granula. Trabekel und Trabekelgefäße sind negativ.

Gruppe II:

Nur die Zentralarterienwände sind etwas stärker als

in den vorhergehenden Gruppen gefärbt. Alle anderen Strukturen weisen eine geringe Enzymaktivität gegenüber Gruppe I auf.

Gruppe III:

Nur in den Zentralarterienwänden und in der Umgebung der Milzsinus sind einzelne Granula zu finden.

V. Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse.

Cytochromoxidase

In allen positiven Strukturen der Milz fällt histochemisch eine vermehrte Enzymaktivität der mit Sauerstoff behandelten Tiere auf (Abb. 2). Charakteristisch für die Sauerstofftiere ist das Zusammenfließen und die Verklumpung der Granula. Angedeutet findet man dieses Phänomen auch bei den Presslufttieren (Tab. 2).

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa:			
interfollikulär	+	Ø - +	+ - ++
subkapsulär	+++ - ++++	++++	+++++
Milzknötchen	Ø	Ø	Ø - +
perifoll. Ring	++ - +++	+++	++++
Zentralarterie	Ø	Ø	Ø
Trabekel	Ø	Ø	Ø
Trabekelgef.	Ø	Ø	Ø
Organkapsel	Ø	Ø	Ø

Tab. 2: Verhalten der Cytochromoxidase-Aktivität bei Kontroll- und Sauerstofftieren.

OHP - oxygen high pressure.

weitere Zeichenerklärung siehe S. 13

Dehydrogenasen

1. Laktatdehydrogenase: Es fällt eine Steigerung der Enzymaktivität in den Zentralarterienwänden der Sauerstofftiere gegenüber den Normaltieren auf (Abb. 3);

die Presslufttiere verhalten sich ähnlich den OHP-Tieren. Die Weidenreichsche Randzone ist bei den Tieren der Gruppen II und III eindeutig kräftiger dargestellt als bei den Normaltieren. Die weiße Pulpa ist bei den Presslufttieren gesteigert, dagegen liegt bei den OHP-Tieren eine Abnahme gegenüber den Normaltieren vor. Die rote Pulpa ist in allen Gruppen in Granulierung, Farbtintensität und Topographie der Enzym-Reaktionsprodukte identisch. Weiter fällt auf, daß die Trabekel der Pressluft- und Sauerstofftiere Granula aufweisen, die bei den Normaltieren fehlen. Die Trabekelvenenendothelien sind nur bei den Presslufttieren positiv.

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa	Ø - +	Ø - +	Ø - +
Milzsinus	+	Ø - +	Ø - +
Milzfollikel	Ø - +	+	Ø
perifoll. Ring	+	+ - ++	+ - ++
Zentralarterie	+++	++++	++++ - +++++
Trabekel	Ø	+ - ++	++
Trabekelvenen- endothel	Ø	+ - ++	Ø - +

Tab. 3: Verhalten der Enzymaktivität der LDH in den 3 Gruppen.

Zeichenerklärung S. 13

2. Malatdehydrogenase: In den Normaltieren läßt sich nur in den Zentralarterienwänden und in der Umgebung der Milzsinus MDH nachweisen. Bei den Pressluft- und Sauerstofftieren ist hier eine Steigerung der Enzymaktivität vorhanden. Weiterhin erkennt man Enzymprodukte in der roten Pulpa, in den Milzfollikeln, im perifollikulären Ring und in den Trabekeln. Das Trabekelvenenendothel ist nur bei den Presslufttieren gefärbt. (Tab. 4)

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa	Ø	Ø	Ø
Milzsinus	Ø - +	Ø - +	+
Milzfollikel	Ø	Ø - +	Ø - +
perifoll. Ring	Ø	Ø - +	+
Zentralarterie	++ - +++	++ - +++	++++
Trabekel	Ø	Ø - +	+
Trabekelvenen- endothel	Ø	+	Ø

Tab. 4: Verhalten der MHD-Enzymaktivität in den 3 Gruppen.

Zeichenerklärung siehe S. 13

3. Isocitratdehydrogenase: Es fällt eine Abnahme in sämtlichen Strukturen auf. (Tab. 5)

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa	Ø - +	Ø	Ø
Milzsinus	+ - ++	Ø - +	Ø
Milzfollikel	+	Ø - +	Ø
perifoll. Ring	+ - ++	+	Ø - +
Zentralarterie	++	+	Ø - +

Tab. 5: Verhalten der IDH-Enzymaktivität in den 3 Gruppen.

Zeichenerklärung siehe S. 13

4. Succinatdehydrogenase: Bis auf 3 Präparate der OHP-Reihe ist keine Enzymaktivität zu erkennen. *

NAD-Diaphorase: Die OHP-Reihe ist bis auf einige Granula in den Zentralarterienwänden negativ (Abb. 4). Zwischen den Normal- und Presslufttieren liegt nur ein geringer Unterschied vor (Tab. 6).

* Andere im gleichen Inkubationsmedium gefärbte Schnitte (Hoden, Herz, Leber) wiesen eine positive Reaktion auf.

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa	Ø - +	Ø	Ø
Milzsinus	+	+	Ø
Milzfollikel	Ø - +	+	Ø
perifoll. Ring	+ - ++	++	Ø
Zentralarterie	++++	++++	+
Trabekel	+++	+	Ø

Tab. 6: Verhalten der DD-Enzymaktivität in den 3 Gruppen.

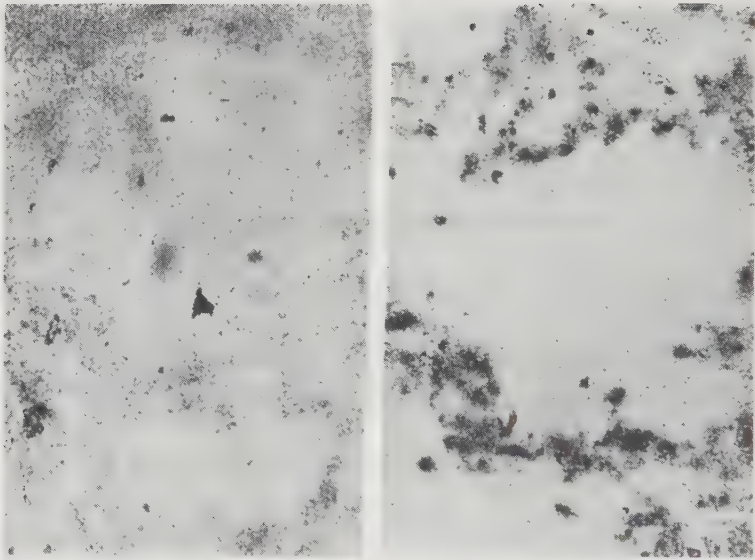
Zeichenerklärung siehe S. 13

6. NADP-Diaphorase: Die OHP-Tiere sind bis auf einige Granula in den Zentralarterienwänden und in der Umgebung der Milzsinus negativ. Die Normaltiere unterscheiden sich geringfügig von den Presslufttieren (Tab. 7).

	Normaltiere	Presslufttiere	OHP-Tiere
rote Pulpa	Ø - +	Ø	Ø
Milzsinus	Ø - +	Ø	Ø - +
Milzfollikel	Ø - +	Ø - +	Ø
perifoll. Ring	+	+	Ø
Zentralarterie	++	+++	+
Trabekel	Ø	Ø - +	Ø

Tab. 7: Verhalten der TD-Enzymaktivität in den 3 Gruppen.

Zeichenerklärung siehe S. 13



a)

b)

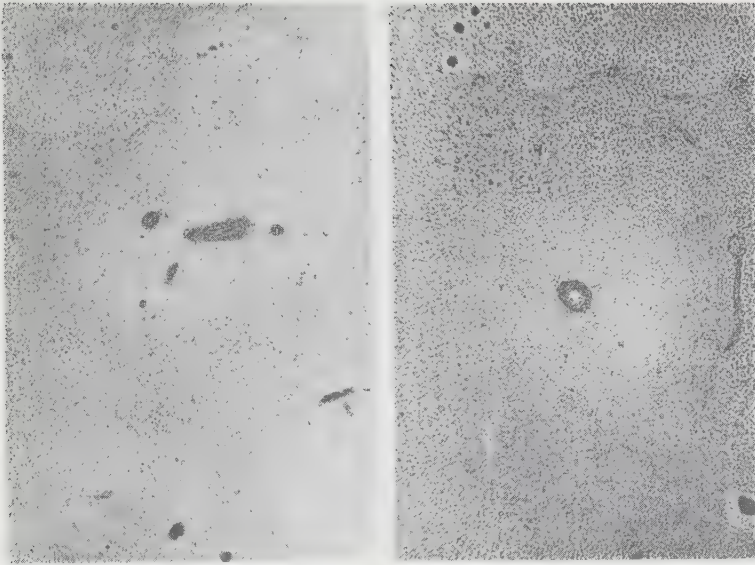
Abb. 2: Darstellung der Cytochromoxidase.

a) Kontrolltier.

b) OHP-Tier.

Vergrößerung 60fach, keine Gegenfärbung.

In b) ist die Aktivierung, die Verklumpung und das Zusammenfließen der Granula im perifollikulären Ring deutlich zu erkennen.



a)

b)

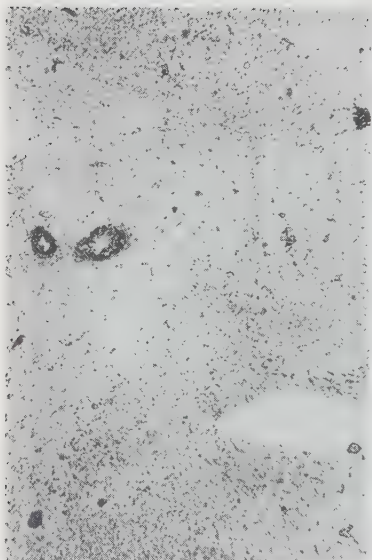
Abb. 3: Darstellung der Laktatdehydrogenase.

a) Kontrolltier.

b) OHP-Tier.

Vergrößerung 60fach, keine Gegenfärbung.

Man erkennt in b) deutlich die Zunahme der LDH-Aktivität im perifollikulären Ring und in der Zentralarterie.



a)



b)

Abb. 4: Darstellung der NAD-Diaphorase.

a) Kontrolltier.

b) OHP-Tier.

Vergrößerung 60fach, keine Gegenfärbung.

In b) ist nur eine sehr schwache Reaktion
in den Zentralarterienwänden zu erkennen.

E. DISKUSSION

I. Funktion der Milz

Nach der Funktion kann man zwei Milztypen unterscheiden:

1. Die Speichermilz, die mit einem muskelkräftigen Balkenapparat versehen ist und nur eine schwach ausgebildete weiße Pulpa besitzt (86).
2. Die Abwehr- oder Stoffwechsellmilz, deren Balkenapparat arm an glatten Muskeln ist. Die weiße Pulpa ist stark betont und die rote Pulpa ist reich an Milzsinus (86).

Ratten haben wie der Mensch eine Abwehrmilz. Es handelt sich um ein Doppelorgan. Die Lymphozyten der weißen Pulpa gehören dem lymphoretikulären System an, die Retikulozyten und Sinusendothelien der roten Pulpa dem retikuloendothelialen System an (3, 86). Daraus folgt, daß die Milz eine wichtige Rolle im Entgiftungs- und Immunisierungsprozess spielt (3, 63, 64, 86). Weiterhin ist sie an der Blutmauserung beteiligt.

II. Histologische Veränderungen in der Milz nach hyperbarer Oxygenation

Es fällt auf, daß histologisch außer einer Hyperämie in der Milz keine Befunde zu erheben sind. Otto und Frydl (61) beobachteten beim Menschen nach Verabreichung von Sauerstoff in hoher Konzentration unter normobaren Bedingungen eine Kapillarparalyse, die man als Ursache der Hyperämie in Erwägung ziehen kann. Wahrscheinlich sind der erhöhte Kohlendioxidspiegel, den viele Untersuchter beschreiben (6, 10, 18, 33, 35, 38, 44, 76), und eine Azidose, die durch das Fehlen der Pufferwirkung bei der Desoxygenierung von Oxyhämoglobin hervorgerufen wird (6, 48, 84), die wichtigsten Ursachen für die Vasodilation. Weitere pathologisch-anatomische Veränderungen

an den Sauerstoffmilzen waren nicht zu erkennen. Zur Ausbildung histologisch faßbarer Schäden an der Milz war die Expositionsdauer der Ratten zu kurz.

III. Enzymveränderungen der Presslufttiere

Die sehr geringen Enzymveränderungen der Presslufttiere gegenüber den Normaltieren lassen sich durch den erhöhten Sauerstoffpartialdruck erklären, der in unseren Versuchen etwa 455 mmHg betrug. Die Befunde deuten die stärkeren Abweichungen der Enzymaktivitäten schon an, die bei den OHP-Tieren auftreten.

IV. Enzymveränderungen der mit Sauerstoffüberdruck beatmeten Tiere

Cytochromoxidase und Succinatdehydrogenase

Nach Roth (71) tritt nach hyperbarer Oxygenation eine Schwächung des Cytochromsystems ein. Auch Haugaard (37) fand eine Inaktivierung der Enzyme der Atmungskette bei einem Sauerstoffdruck von 2 ata und mehr. Dagegen spricht die in unseren Versuchen aufgetretene vermehrte Cytochromoxidase-Aktivität der OHP-Tiere. Dieser Befund läßt vielmehr vermuten, daß das vermehrte Sauerstoffangebot zu einer Aktivierung der Atmungskette führt. Dies würde auch im Einklang mit dem Nachweis von Succinatdehydrogenase-Reaktionsprodukten in den Milzen der Sauerstofftiere stehen. Jedoch läßt das Zusammenfließen und die Verklumpung der Granula bei der Darstellung der Cytochromoxidase vermuten, daß es in der Milz unter Sauerstoffüberdruckbehandlung zu einer Membranschädigung der Mitochondrien kommt.

Möglicherweise ist dieser Vorgang auch für den nunmehr positiven histochemischen Nachweis der SDH-Aktivität in der Milz verantwortlich. Es ist nämlich daran zu

denken, daß die intakten mitochondrialen Membranen der Lympho- und Retikulozyten der Milz für die von uns verwendete Inkubationslösung undurchlässig sind. Auch Elves (28) beobachtete, daß die Mitochondrienmembranen von Lymphozyten zu einem großen Teil von den zur Darstellung von Dehydrogenasen benutzten Inkubationsmitteln nicht durchdrungen werden können. Das Auftreten von Formazangranula beim Nachweis der SDH in den Milzen der OHP-Ratten läßt sich somit nur durch eine Membranschädigung der Mitochondrien erklären.

Analog hierzu sind in diesem Zusammenhang die elektronenmikroskopischen Befunde anderer Autoren zu erwähnen, die degenerierte Mitochondrienmembranen in den Alveolarzellen nach Sauerstoffüberdruck beschrieben (29, 42, 44, 58, 71, 74, 89).

Die bei hyperbarer Oxygenation häufig beobachtete Peroxidation von Lipiden, die an der Bildung von Zellmembranen beteiligt sind, sprechen ebenfalls für eine Funktionsstörung der mitochondrialen Membranen (40, 41, 53, 71).

Aus unseren Ergebnissen kann man schließen, daß infolge der Membranschädigungen die Cytochromoxidase aus den Mitochondrien austreten kann. Es stellt sich die Frage, ob die ausgetretenen Cytochromoxidase unter den nun in vivo nicht optimalen Bedingungen für den Energiegewinn in der Atmungskette überhaupt noch herausgezogen werden kann. Dies würde eine Depression des Cytochromsystems bedeuten und auch die von Strugholt (71) inaugurierte "hyperoxämisch bedingte Hypoxidose" nach Sauerstoffüberdruckbehandlung erklären. Infolge der Schädigung der Atmungskette kommt es zu einer verminderten

Utilisation des Sauerstoffs in der Atmungskette.
Folge davon ist ein verminderter Energiegewinn.

Die stärksten Schädigungen der Mitochondrien in den Milzen der Sauerstofftiere liegen in den subkapsulären und perifollikulären Anteilen der roten Pulpa, die Verteilung der Granula in der pars interfollikularis dagegen weicht nur wenig von den Kontrolltieren ab. Für diese Veränderungen ist eine Gefäßsperrung der Pulpaarteriolen verantwortlich, die die Blutverteilung in der roten Pulpa reguliert (86). Es ist anzunehmen, daß als Reaktion auf die Hyperoxämie eine Veränderung der Milzdurchblutung zugunsten der subkapsulären und perifollikulären Anteile der roten Pulpa auftritt.

Dehydrogenasen

Laktatdehydrogenase und Malatdehydrogenase zeigen einen leichten Anstieg, Isocitratdehydrogenase, NAD- und NADP-Diaphorase einen Abfall der histochemischen Enzymaktivität in den Sauerstoffmilzen gegenüber den Kontrollmilzen.

Die Behinderung der Atmungskette (37, 71) läßt einen vermehrten anaeroben Abbau der Glukose vermuten, wodurch der Anstieg der Laktatdehydrogenase, die das Pyruvat zu Laktat dehydrogeniert, zu erklären wäre. Auch die Untersuchungen von Dolezal und Mitarbeiter (26) sowie von Maillot und Mitarbeiter (49), letztere nach intermittierender Behandlung, ergaben nach längerer Sauerstoffüberdruckbehandlung einen Anstieg von Pyruvat und Laktat im Blut.

Die in vitro-Versuche von Teng (83) geben eine mögliche Erklärung für den LDH-Anstieg. Er setzte Ascites-Tumorzellen einem Sauerstoffdruck von

4,2 ata aus und stellte fest, daß bei Anwesenheit von genügend Substrat die Dehydrogenase-Aktivität in den ersten 30 Minuten gleichblieb und nach 60 sogar geringfügig gesteigert war. Er kommt zu dem Schluß, daß Anwesenheit von genügend Substrat die Sulfhydrylgruppen der Dehydrogenasen vor Oxidation schützt.

Die Beeinträchtigung des aeroben Glukoseabbaus infolge der durch den Sauerstoff hervorgerufenen Störungen in der Atmungskette und im Citronensäurezyklus führt zu einem Stau von Pyruvat. Somit steht der LDH genügend Substrat zur Verfügung, das nach Teng vor Oxidation der SH-Gruppen schützt. Auch Roth (71) schreibt, daß LDH und MDH unter hyperbarem Sauerstoff keine SH-Gruppenoxidation zeigen, obwohl er diese an zahlreichen anderen Dehydrogenasen im Hirngewebe feststellte.

Möglicherweise ist der Anstieg der MDH-Aktivität in den sauerstoffbehandelten Milzen gegenüber den Kontrolltieren ebenfalls auf die Stauung von Pyruvat zurückzuführen. Ein Abbau von Pyruvat zu Malat ist nämlich möglich. Auch hier läge dann ein Substrat-Schutzmechanismus vor.

Das Verhalten von LDH und MDH in den Sauerstoffmilzen steht allerdings im Widerspruch zu den Ergebnissen vieler Autoren, die eine Oxidation der SH-Gruppen beschreiben, die generell zu einer Inaktivierung der Dehydrogenasen führen soll (21, 24, 38, 45, 60, 67, 71, 82, 89). So fanden sowohl Haugaard (38) als auch Jamieson und Mitarbeiter (40) eine Abnahme der histochemischen Aktivität von SH-Enzymen im Lungengewebe von Ratten, die mit hyperbarem Sauerstoff beatmet wurden. Dickens (24) und Haugaard (38) beobachteten das gleiche Verhalten der SH-Enzyme im Hirngewebe und Walther (87) in Herz,

Leber und Niere von Ratten. In biologischen Untersuchungen konnte Dixon (25) feststellen, daß gerade die Laktatdehydrogenase besonders instabil gegenüber Sauerstoff ist.

Im Gegensatz zu diesen Befunden stehen die eigenen Beobachtungen an der Rattenmilz. Hier kommt es unter hyperbarer Oxygenation sogar zu einer geringen Aktivitätssteigerung der Laktat- und Malatdehydrogenase. Es ist daher anzunehmen, daß in der Milz entweder besondere Stoffwechselbedingungen vorliegen oder erst nach hyperbarer Oxygenation auftreten. Sie bedingen möglicherweise in diesem Organ einen Substratüberschuß, der die LDH und MDH vor Oxidation schützt.

Das Verhalten der IDH, NAD- und NADP-Diaphorase, deren histochemische Enzymaktivität in der Milz der sauerstoffexponierten Tiere gegenüber den Kontrolltieren stark vermindert ist, wird seinen Ursprung in der Oxidation der Sulfhydrylgruppen haben (Abb. 5). Die unter Sauerstoffüberdruck vermehrt gebildeten freien Radikale führen zur Oxidation der Sulfhydrylgruppen. Dies hat eine Inaktivierung der Dehydrogenasen zur Folge (31, 32, 36, 71).

Eine weitere Ursache für die histochemisch nachgewiesene Aktivitätsabnahme kann in einem in vivo entstandenen Substratmangel liegen. Da IDH, NAD- und NADP-Diaphorase Enzyme des Citronensäurezyklus sind und es infolge der Schädigung des Cytochromsystems zum vermehrten anaeroben Abbau der Glukose kommt, wird diesen Fermenten im Verlauf der Sauerstoffüberdruckbehandlung weniger Substrat angeboten. Dieser Substratmangel bedeutet aber nach den Untersuchungen von Teng (83) eine erhöhte Sensibilität der Dehydrogenasen gegenüber dem Sauerstoff.

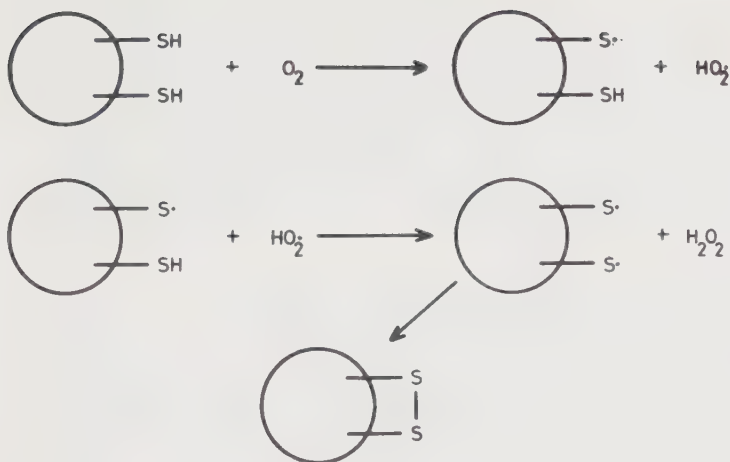


Abb. 5: Darstellung des chemischen Vorgangs der Oxidation der Sulfhydrylgruppen. durch molekularen Sauerstoff.

Die Kreise sollen das Enzym darstellen.

Über eine Radikalbildung kommt es zur Entstehung von Disulfidbrücken.

Eine weitere Folge der schon bei den Störungen der Mitochondrienmembranen erwähnten Peroxidation der Lipide müßte z. B. für den Erythrozyten eine Abnahme der osmotischen Resistenz sein. Von einigen Autoren wird nach hyperbarer Oxygenation eine vorzeitige Alterung und eine Abnahme der osmotischen Resistenz beschrieben (53, 71). Da der Milz bei der Blutmauserung eine besondere Bedeutung zukommt, müßte man bei Vorliegen einer gesteigerten Hämolyse in der Umgebung der Milzsinus und im Weidenreichschen Randwall Veränderungen bei den OHP-Tieren feststellen. Im perisinuösen Anteil der roten Pulpa ist nur bei dem Nachweis der MDH

eine geringfügige Aktivitätssteigerung festzustellen. Ebenso ist die Cytochromoxidase-Aktivität bei den Sauerstofftieren in diesem Bereich gegenüber den Kontrolltieren gesteigert. Die LDH unterscheiden sich in diesem Bereich nicht von den Kontrolltieren. Die eigenen Befunde sind also nicht geeignet zur Klärung der Frage der verminderten Resistenz der Erythrozyten beizutragen.

V. Folgen der Enzymschäden in der Milz

Die stärksten Enzymveränderungen sind im perifollikulären Ring und im subkapsulären Anteil der roten Pulpa zu erkennen. Der perifollikuläre Ring und die daran angrenzende rote Pulpa werden auch als Weidenreichsche Knötchenrandzone bezeichnet. Dieser wird bevorzugt durchblutet und hier erscheinen auch zuerst in das Blut eingebrachte Fremdsubstanzen. Hier fällt eine Anhäufung von Plasmazyten, Monozyten und von in loco entstandenen eosinophilen Granulozyten auf. Daraus folgert, daß die Knötchenrandzone eine wichtige Rolle im Entgiftungs- und Immunisierungsprozess spielt (80, 86). Petterson beobachtete bei Ratten nach Antigeninjektion eine Wanderung von Plasmazellvorläufern der Weidenreichschen Knötchenrandzone in die Milzfollikel. Anschließend beobachtete er eine Differenzierung zu reifen Plasmazellen in der Randzone, die in Anwesenheit von Makrophagen erfolgt (63, 64).

Die Enzymaktivitätsverminderung und die Störung der Mitochondrienmembranen in den Zellen der Follikelrandzone läßt vermuten, daß die Entgiftungs- und Immunisierungsaufgabe der Milz während hyperbarer Oxygenation behindert wird.

F. ZUSAMMENFASSUNG

In der Milz der Ratte wurde Cytochromoxidase, Laktatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Isocitratdehydrogenase, Succinatdehydrogenase, NAD-Diaphorase und NADP-Diaphorase nach hyperbarer Oxygenation untersucht. Der Druck betrug 3,8 ata, die Expositionsdauer 4 Stunden. Klinisch konnte man Krampfanfälle und vertiefte Atmung als typische Zeichen der Sauerstoffvergiftung erkennen. Pathologisch-anatomisch und histologisch waren außer einer Hyperämie der Milz keine Veränderungen zu sehen. Cytochromoxidase, Laktatdehydrogenase, Malatdehydrogenase und Succinatdehydrogenase zeigten eine Zunahme der Enzymreaktion. Die restlichen Fermente dagegen wiesen eine Aktivitätsminderung gegenüber den Normaltieren auf. Als Pathogenese der Sauerstoffintoxikation wird eine Schädigung der Mitochondrienmembranen und des Cytochromsystems, sowie Oxidation der Sulfhydrylgruppen diskutiert.

Nach eigenen Befunden bewirkt die Sauerstofftoxizität an der Milz maßgeblich eine Membranschädigung der Mitochondrien und eine Hemmung der Dehydrogenaseaktivität der Isocitratdehydrogenase, NAD- und NADP-Diaphorase. Die Laktat- und Malatdehydrogenase dagegen zeigten einen Aktivierungsanstieg. Das auffallende Verhalten der beiden Fermente läßt vermuten, daß genügend vorhandenes Substrat diese Enzyme vor der Einwirkung des hyperbaren Sauerstoffs schützt. Der Anstieg der Succinatdehydrogenaseaktivität wird dadurch erklärt, daß das Inkubationsmedium infolge der Schädigung der Mitochondrienmembran leichter an das Enzym gelangt.

Die Enzymaktivitätsverminderung und die Schädigung der Mitochondrien in den Zellen der Follikelrandzone läßt

vermuten, daß die Entgiftungs- und Immunisierungs-
aufgabe der Milz während hyperbarer Oxygenation behindert
wird.

G. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Allgood, M. A.,
Holmes, D. D. Oxygen under high pressure
and experimental tetanus.
Aerospace Med. 38, 169 - 170,
(1967)
2. Anthony, A. J. Sauerstoffatmung, Blut und
Kreislauf.
Luftfahrtmedizin 4, 11 - 13,
(1939)
3. Aschoff, L. Das reticulo-endotheliale
System.
Ergebnisse aus der inneren Med.
und Kinderheilkunde
26, 1 - 118, (1924)
4. Ashton, N.,
Ward, B.,
Serpell, G. Role of oxygen in the genesis
of retrolental fibroplasia.
Brit. J. Ophthalm.
37, 513 - 520, (1953)
5. Balentine, J. D.,
Gutsche, B. B. Central nervous system lesions
in rats exposed to oxygen at
high pressures.
Amer. J. Path. 48, 107 - 127,
(1966)
6. Bean, J. W. Effect of oxygen at increased
pressures.
Physiol. Rev. 25, 1 - 47, (1945)
7. Becker-Freyseng, H.,
Clamann, H. G. Zur Frage der Sauerstoff-
vergiftung.
Klin. Wschr. 43, 1382 - 1385,
(1939)

8. Bennett, P. B.,
Smith, F. J. G. Hyperbaric oxygen and the
 significance of increased
 cerebral oxygen and carbon
 dioxide tensions.
 Int. Anaesth. Clin.
 4, 41 - 55, (1966)
9. Bernadini, A. T.,
Pryos, W. Initial observations on the
 effect of hyperbaric and
 hypobaric pressure on cell
 permeability.
 USAF School of Aerospace Med.
 SAM-TR, 66 - 108, (1967)
10. Bert, P. La pression barométrique.
 Paris 1878
11. Binger, C. A. L.,
Faulkner, J. M.,
Moore, R. L. Oxygen poisoning in mammals.
 J. exp. Med. 45, 849 - 863,
 (1927)
12. Boerema, J. Die Behandlung des Gasödems
 mit hyperbarem Sauerstoff.
 Wehrmed. Monatsschr.
 10, 19 - 22, (1966)
13. Bornstein, A.,
Stroink Über Sauerstoffvergiftung.
 Dtsch. med. Wschr.
 32, 1495 - 1497, (1912)
14. Boycott, A. E.,
Oakley, C. L. Oxygen poisoning in rats.
 J. Path. Bact. 35, 468 - 469,
 (1932)
15. Bradley, M. E.,
Vorosmarti, J. Hematological changes resulting
 from hyperbaric oxygenation
 in divers and non-divers.
 Aerospace Med. 39, 493 - 497,
 (1968)

16. Brummelkamp, W. H.,
Hoogendijk, J.,
Boerema, I. Treatment of anaerobic infections (clostridial myositis) by drenching tissues with oxygen under high atmospheric pressure. Surgery 49, 229 - 302, (1961)
17. Burchard, E. Hyperbare Oxygenation. Ärztl. Praxis XXI. Jahrgang 84, 4483 - 4486, (1969)
18. Campbell, J. A. The influence of O_2 -tension in the inspired air upon the O_2 -tension in the tissues. J. Physiol. (London) 60, 20 - 29, (1925)
19. Clamann, H. G.,
Becker-Freyseng, H. Einwirkung des Sauerstoffs auf den Organismus unter besonderer Berücksichtigung des Menschen. Luftfahrtmedizin 4, 1 - 10, (1939)
20. Coyne, R. V.,
Ackerman, A. G. Effects of a space-cabin atmosphere on the immune response: II. Histochemical and biochemical alterations in oxidative enzyme activity. Aerospace Med. 40, 1224 - 1231, (1969)
21. Currie, W. D.,
Gelein, R. M. Jr.,
Sanders, A. P. Effects of hyperbaric oxygenation on metabolism. V. Comparison of protective agents at 5 atmospheres 100% oxygen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132, 660 - 662, (1969)

22. David, O. Versuche zur Erzeugung von
Lungenhyperämie.
Zschr. klin. Med.
74, 404 - 427, (1912)
23. Davies, H. C., Biochemical aspects of
Davies, R. E. oxygen poisoning.
In: Fenn, W. O. and H. Rahn:
Handbook of Physiology.
Washington D. C. 1965
24. Dickens, F. The toxic effect of oxygen
on nervous tissue.
In: Elliot, K. A. C.:
Neurochemistry.
Springfield 1955
25. Dixon, M., Cause of instability of
Maynard, J. M., cytochrome c reductase.
Morrow, P. F. W. Nature 186, 1032 - 1033, (1960)
26. Dolezal, V., Effect of prolonged oxygen
Vorei, F., inhalation at normal baro-
Andel, J. metric pressure on carbo-
hydrate metabolism in rats.
Physiol. Bohemoslov.
11, 236 - 242, (1962)
27. Dräger - Werke Austauschtabellen für das
Tauchen mit Pressluft.
5. Ausg. Lübeck 1968
28. Elves, M. W. The lymphocytes.
London 1966
29. Felig, P. Oxygen toxicity: Ultrastructural
and metabolic aspects.
Aerospace Med. 36, 658 - 662,
(1965)

30. Fuson, R. L.,
Saltzman, H. A.,
Smith, W. W.,
Whalen, R. E.,
Osterhout, S.,
Parker, R. T. Clinical hyperbaric oxy-
genation with severe oxygen
toxicity.
New Engl. J. Med.
19, 415 - 419, (1965)
31. Gerschman, R.,
Gilbert, L.,
Nye, S. W.,
Dwyer, P.,
Fenn, W. O. Oxygen poisoning and
x-irradiation: A mechanism
in common.
Science 119, 623 - 626,
(1954)
32. Gerschman, R. Oxygen in the animal organism.
Oxygen effects in biological
systems.
Oxford 1964
33. Gesell, R. On the chemical regulation
of respiration with special
reference to the metabolism
of the respiratory center
and the coordination of the
dual function of hemoglobin.
Amer. J. Physiol. 66, 5 - 49,
(1923)
34. Gilbert, D. L.,
Gerschman, R.,
Fenn, W. O. Effects of fasting and
x-irradiation on oxygen
poisoning in mice.
Amer. J. Physiol.
181, 272 - 274, (1955)
35. Grossman, M. S.,
Penrod, K. H. The thyroid and high
oxygen poisoning in rats.
Amer. J. Physiol.
156, 182 - 184, (1949)

36. Guzman-Barron, E. S. Oxidation of some oxidation-reduction systems by oxygen at high pressures. Archives of Biochemistry and Biophysics 59, 502 - 510, (1955)
37. Haugaard, N. Oxygen poisoning: XI. The relation between inactivation of enzymes by oxygen and essential sulfhydryl groups. J. Biol. Chem. 164, 265 - 270, (1946)
38. Haugaard, N. Cellular mechanism of oxygen toxicity. Physiol. Rev. 48, 311 - 373, (1968)
39. Hill, L. The influence of carbon dioxide in the production of oxygen poisoning. Quart. J. Exper. Physiol. 23, 49 - 50, (1933)
40. Jamieson, D.,
Ladner, K.,
van den Brenk, H. A. S. Pulmonary damage due to high pressure oxygen breathing in rats. IV. Quantitative analysis of sulfhydryl and disulphide groups in rat lungs. Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci. 41, 491 - 497, (1963)
41. Kann, H. E. Jr.,
Mengel, Ch. E.,
Smith, W.,
Horton, B. Oxygen toxicity and vitamin E. Aerospace Med. 35, 840 - 844, (1964)

42. Kistler, G. S.,
Caldwell, P. R. B.
Weibel, E. R. Development of fine structural
damage to alveolar and
capillary lining cells in
oxygen-poisoned rat lungs.
J. Cell. Biol. 32, 605 - 628,
(1967)
43. Kydd, G. H. Observations on acute and
chronic oxygen poisoning.
Aerospace Med. 35, 1176 - 1179,
(1964)
44. Lambertsen, C. J.,
Stroud, R. H.,
Gould, R. A.,
Kough, R. H.,
Ewing, J. H.,
Schmidt, C. F. Oxygen toxicity. Respiratory
responses of normal man to
inhalation of 6 and 100 per cent
oxygen under 3,5 atmospheres
pressure.
J. appl. Physiol.
5, 487 - 493, (1953)
45. Lewis, S.,
Wills, E. D. The destruction of -SH groups
of proteins and amino acids
by peroxides of unsaturated
fatty acids.
Biochemical Pharmacology
11, 901 - 912, (1962)
46. Liebegott, G. Über Organveränderungen bei
langer Einwirkung von Sauer-
stoff mit erhöhtem Partial-
druck im Tierexperiment.
Beitr. path. Anat.
105, 413 - 431, (1941)
47. Lieven, Th. A. von Probleme der Sauerstoff-
Überdruck-Behandlung unter
besonderer Berücksichtigung
des Gasbrandes.
Diss. Med. Fak. Techn. Hoch-
schule München 1970

48. Lieven, Th. A. von, Störungen des Säure-Basen-
Walther, G., Haushaltes bei inter-
Maillot, K. von mittierender hyperbarer
Oxygenation der Ratte.
Anästhesist 20, 98 - 102,
(1971)
49. Maillot, K. von, Blutchemische Veränderungen
Lieven, Th. A. von, bei intermittierender hyper-
Walther, G. barer Oxygenation der Ratte.
Beitr. gerichtl. Med.
28, 59 - 65, (1971)
50. Mann, P. J. G., Toxic effects of oxygen and
Quastel, J. H. of hydrogen peroxide on brain
metabolism.
Biochem. J. 40, 139 - 144,
(1946)
51. Massion, W. Sauerstoff-Intoxikation.
Klin. Wschr. 33, 457 - 459,
(1955)
52. Matteo, R. S., Residual effects of a single
Nahas, G. G. exposure to hyperbaric
oxygen in mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
119, 788 - 790, (1965)
53. Mengel, Ch. E., Effects of in vivo hyperoxia
Kann, H. E. on erythrocytes. III. In vivo
peroxidation of erythrocyte
lipid.
J. Clin. Invest.
45, 1150 - 1158, (1966)

60. Orzechowski, G. Neuere Erkenntnisse in der
Physiopathologie der Sauer-
stoffvergiftung.
In: Überleben auf See.
II. Marine-medizinisch-wissen-
schaftliches Symposium in Kiel.
Hrg. v. Schiffahrtsmedizinischen
Institut der Marine im Auftrage
der Inspektion des Marine-
sanitätsdienstes.
Kiel 1968, S. 123 - 137
61. Otto, H., Sauerstoff und seine Risiken.
Frydl, V. Med. Klinik 66, 741 - 745,
(1971)
62. Pearse, A. G. E. Histochemistry
Theoretical and Applied.
London 1961
63. Pettersen, J. C. A comparison of the metalophic
reticuloendothelial cells to
cells containing acid phosphatase
and non specific-esterase in
the lymphoid noduls of normal
and stimulated rat spleens.
Anat. Rec. 149, 269 - 278,
(1964)
64. Pettersen, J. C., A morphological and histo-
Borgen, D. F., chemical study of the primary
Graupner, K. C. and secondary immune responses
in the rat spleen.
Amer. J. Anat. 121, 305 - 318,
(1967)

65. Pflesser, G. Beitrag zur Frage der Schädlichkeit des Sauerstoffs.
Arch. exper. Path.
187, 472 - 478, (1937)
66. Pichotka, J. Über die histologischen Veränderungen der Lunge nach Atmung von hochkonzentriertem Sauerstoff im Experiment.
Beitr. path. Anat.
105, 381 - 412, (1941)
67. Pittinger, Ch. B. Hyperbaric Oxygenation.
Springfield-Illinois 1966
68. Priestley, J. The discovery of oxygen.
Alembic Club Reprints No.7
Univ. of Chicago Press,
Chicago 1906
69. Robinson, F. R.,
Sopher, R. L.,
Witchett, C. E.,
Carter, V. L. Jr. Pathology of normobaric oxygen toxicity in primates.
Aerospace Med. 40, 879 - 884,
(1969)
70. Rosenbaum, R. M.,
Wittner, M.,
Lenger, M. Mitochondrial and other ultrastructural changes in great alveolar cells of oxygen adepthed and poisoned rats.
Lab. Invest. 20, 516 - 528,
(1969)
71. Roth, E. M. Space-cabin atmospheres.
Part I - oxygen toxicity.
NASA SP - 47 1964
72. Rueckert, R. R.,
Mueller, G. C. Effect of oxygen tension on HeLa cell growth.
Cancer Res. 20, 944 - 949,
(1969)

73. Scarpelli, D. G.,
Hess, R.,
Pearse, A. G. E. The cytochemical localization
of oxidative enzymes.
I. Diphosphopyridine nucleotide
diaphorase and triphosphopyri-
dine nucleotide diaphorase.
J. Biophys. Biochem. Cytol.
4, 747 - 752, (1958)
74. Schaffner, F.,
Felig, Ph.,
Wright-Pettersen,
A. F. B.,
Trachtenberg, E. Structure of rat lungs after
protracted oxygen breathing.
Arch. Path. 83, 99 - 107,
(1967)
75. Schmiedehausen, G. Die pathologisch-anatomischen
Veränderungen der Lunge bei
verändertem Sauerstoffgehalt
der Atemluft.
Diss. Med. Fak. Halle (1909)
76. Schnakenburg, K. von Sauerstoffvergiftung.
Umschau 4, 116 - 117, (1970)
77. Seguin, A.,
Lavoisier, A. L. Premier mémoire sur la
respiration des animaux.
Histoire de l'académie des
sciences 566 - 584, Paris 1793
78. Siegel, B. V. Effects of long-term periodic
administration of hyperbaric
oxygen on body and organ weights,
histology of the mouse.
Aerospace Med. 38, 399 - 401,
(1967)
79. Smith, J. L. The pathological effects due
to increase of oxygen tension
in the air breathed.
J. Physiol. London
24, 19 - 35, (1899)

80. Snook, Th. Studies on the perifollicular region of the rat's spleen. Anat. Rec. 148, 149 - 159, (1964)
81. Stadie, W. C., Oxygen poisoning.
Riggs, B. C., Amer. J. Med. 207, 84 - 114,
Haugaard, N. (1944)
82. Straub, J. B. Mechanism of the toxic effects of hyperbaric oxygen. Nature 215, 1196, (1967)
83. Teng, S. S., Effect of hyperbaric oxygen on cellular dehydrogenases and sulfhydryls. Expt. Cell Res. 60, 451 - 454, (1970)
84. Thews, G. Der Säure-Basen-Status des Blutes.
Sonderdruck aus: Ärzteblatt Rheinland-Pfalz 1. 4. 1968 Mainz
85. Thews, G. Oxygen exchange in the erythrocyte. Experientia 25, 456 - 460, (1969)
86. Tischendorf, F. Zur Morphologie der Milz. Materia medica Nordmark Uetersen 1958
87. Walther, G. Tierexperimentelle enzym-histochemische Untersuchungen zur Sauerstoffvergiftung. Nachweis einer Frühschädigung an Herz, Leber, Niere. Habilitationsschrift Med. Fak. Mainz 1972

88. Weibel, E. R. Toxische Auswirkungen
erhöhter O₂-Spannung auf die
Lunge.
Symposium über Lungenver-
änderungen bei Langzeit-
beatmung.
14. - 16. Okt. 1971 Freiburg
89. Young, J. M. Oxygen poisoning in a hyper-
baric environment.
J. of the Royal Naval Medical
Service 56, 39 - 47, (1970)
90. Zirkle, L. G.,
 Mengel, Ch. E.,
 Horton, B.,
 Duffy, E. J. Studies of oxygen toxicity
in the central nervous system.
Aerospace Med. 36, 1027 - 1032,
(1965)

Herrn Prof. Dr. med. H. Leithoff danke ich für die Überlassung des Themas sowie für die Rat-schläge hinsichtlich der Gestaltung der Arbeit. In diesen Dank schließe ich Herrn Prof. Dr. med. G. Walther ein, der mir bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung der Arbeit behilflich war.

LEBENS LAUF

Ich bin am 27.Mai 1945 in Bingen geboren. Meine Eltern sind Jakob Rothschenk, Kraftfahrzeugschlosser, und Christine Rothschenk, geborene Eisenbach.

Nach Besuch von Volksschule und Gymnasium von 1951 bis 1966 legte ich am 2.März 1966 am humanistischen Zweig des Stefan-George-Gymnasiums in Bingen meine Reifeprüfung ab.

Am 1.Mai 1966 begann ich an der Universität Mainz mein Medizinstudium. Dort bestand ich am 20.März 1969 die ärztliche Vorprüfung und am 30.Juni 1972 die ärztliche Prüfung. Seit dem 1.August 1972 arbeite ich als Medizinalassistent am Heilig-Geist-Hospital in Bingen.

Ich bin verheiratet und habe zwei Kinder.

